

COMBATE DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea*) DE LA FRESA MEDIANTE *Gliocladium roseum*

Néstor Chaves^{1/*}, Amy Wang^{*}

Palabras clave: Fresa, *Botrytis cinerea*, *Gliocladium roseum*, biocontrol, moho gris.
Keywords: Strawberry, *Botrytis cinerea*, *Gliocladium roseum*, biocontrol, gray mold.

Recibido: 21/06/04

Aceptado: 22/07/04

RESUMEN

En la zona de Poasito de Alajuela, se evaluó la acción del antagonista *Gliocladium roseum*, en forma individual y en conjunto con los fungicidas empleados en la finca, para el combate de *Botrytis cinerea* en fresa; comparándose los resultados contra los obtenidos con el manejo comercial. Se empleó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones y se hicieron aplicaciones semanales del antagonista (a una concentración $\geq 10^7$ conidios ml⁻¹) durante un período aproximado de 4 meses (julio-octubre del 2000). Se evaluó la incidencia de moho gris en condiciones de campo y poscosecha, así como el efecto de los fungicidas aplicados sobre la germinación de los conidios del antagonista, mediante una prueba *in vitro*. Se obtuvo un combate más efectivo de la enfermedad en condiciones de campo al emplear el biocontrolador sólo o en conjunto con los fungicidas, con respecto al manejo comercial que se hace de la misma. En poscosecha, el desempeño del antagonista fue estadísticamente igual al del combate químico. Estos resultados muestran que los fungicidas aplicados no afectan considerablemente al antagonista, lo que se corroboró con la prueba *in vitro*. Al emplear *G. roseum* para el combate de *B. cinerea* no sólo se logra combatir efectivamente a este, sino también el resto de los patógenos (*Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*,

ABSTRACT

Control of gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberry with *Gliocladium roseum*. The effect of *Gliocladium roseum* on the control of *Botrytis cinerea* was studied in the area of Poasito of Alajuela, where the action of the antagonist was evaluated individually and jointly with the fungicides applied by the farm to control *B. cinerea*; the results were compared with those attained with commercial management. A randomized complete block design with 4 repetitions was used. Weekly applications of the antagonist (at a concentration $\geq 10^7$ conidia ml⁻¹) were made during nearly 4 months (July-October, 2000). The incidence of gray mold under field and post-harvest conditions, and the effect of fungicides applied on the conidia of the biocontroller *in vitro*, were evaluated. Better control of the disease in field conditions using the antagonist alone or jointly with fungicides was obtained, as compared to that obtained with commercial management. Under post-harvest conditions, the performance of the biocontroller was statistically equal to the fungicide control. These results show that fungicides applied do not affect the action of the antagonist considerably, which was confirmed with the *in vitro* test. The use of *G. roseum* not only controls *B. cinerea*, but also provides good control of other pathogens (*Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Alternaria*,

1/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: nfchaves@costarricense.cr

* Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

Alternaria, *Fusarium*, *Verticillium* y *Penicillium*), ya que el porcentaje de frutas sanas es mayor al integrar la acción del antagonista al manejo de enfermedades de la finca. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas. Por lo anterior se concluye que *G. roseum* constituye una posible alternativa de manejo integrado del moho gris en fresa.

INTRODUCCIÓN

La fresa es una fruta de distribución mundial, muy apreciada para consumo fresco y la elaboración de postres, debido a sus cualidades de color, aroma y acidez; además es una fruta rica en vitaminas A y C (Baraona y Sancho 1992). En Costa Rica se comercializa a través de las ferias del agricultor y empresas como Hortifruti y Dos Pinos (F. Murillo y L. Campos 2000, Comunicación personal).

Además de la alta perecibilidad de la fruta, los productores enfrentan problemas de plagas y enfermedades que limitan la producción, y generan gastos por concepto del uso de plaguicidas (F. Murillo 2000, Comunicación personal). Una de las principales enfermedades es el moho gris causado por *Botrytis cinerea*, que aparece como una mancha marrón claro o amarillenta hacia el final del cáliz y a los pocos días cubre de un moho gris, de apariencia polvosa, toda la superficie de la fruta (Matamoros 1986, Baraona y Sancho 1992, Agrios 1995, APS 1998). Este patógeno es capaz de afectar el 95% de los frutos después de 48 horas de cosechados (Matamoros 1986).

Una posible alternativa no química para el combate de esta enfermedad es el uso del biocontrolador *Gliocladium roseum*, un Hyphomycete que es conocido por colonizar como un parásito no patogénico al hospedero y que ha sido probado con éxito como agente biocontrolador de *Botrytis cinerea* en fresa, frambuesa, semillas de coníferas, begonia, geranio, rosa, pastora, pepino, tomate, pimienta, violeta persa y cyclamen

(*Fusarium*, *Verticillium* and *Penicillium*), since the percentage of healthy fruits is higher when the action of the antagonist is integrated to the commercial management. However, these differences are not statistically significant. Thus it was concluded that *G. roseum* is a possible alternative of integrated pest management of gray mold in strawberry.

(Sutton *et al.* 1997, Sutton y Yu 1997, Köhl *et al.* 1998, Tatagiba *et al.* 1998). En los mismos demostró ser igual o más efectivo para el combate del patógeno mencionado que los tratamientos fungicidas (Sutton *et al.* 1997).

Se presume que la competencia por nutrientes o sustrato y el micoparasitismo son los métodos de antagonismo de *G. roseum* (Sutton *et al.* 1997). La competencia por el sustrato es considerada como el principal método de biocontrol de *B. cinerea* en tejidos senescentes, ya que el biocontrolador coloniza más rápidamente los tejidos, lo que contribuye a la supresión del patógeno (Elad 1996, Sutton *et al.* 1997). En las partes aéreas de las plantas se considera que uno de los modos de acción contra *B. cinerea* es la competencia por nutrientes (Sutton *et al.* 1997).

G. roseum también es conocido como micoparásito de hifas, esporas, esclerocios y otros cuerpos fructíferos de varios hongos, entre ellos, *B. cinerea*. Además, produce inhibidores fúngicos y enzimas (glucanasas) que degradan las paredes y así induce la pérdida de turgencia y causa lisis de las hifas del patógeno (Papavizas 1985, Sutton *et al.* 1997). La inducción de resistencia en las plantas hospederas por *G. roseum* ha sido comprobada preliminarmente en plantas de tomate, mediante técnicas de inoculación y detección de ARNm para proteínas relacionadas con la patogénesis (Sutton y Yu 1997).

En fresa, *G. roseum* se caracteriza por colonizar los tejidos sin inducir la producción de síntomas y no ha sido encontrado como patógeno de la misma (Peng y Sutton 1991, Sutton *et al.*

1997). Además, su efectividad en el combate de *B. cinerea* ha sido comprobada en varios ensayos, mostrando iguales o mejores resultados que los tratamientos fungicidas (Sutton *et al.* 1997).

Valdebenito-Sanhueza *et al.* (1997) indican que aplicaciones semanales de *G. roseum* (10^6 conidios ml^{-1}) dieron como resultado un buen combate del moho gris en fresas sembradas con cobertura plástica en invernadero, en condiciones de alta humedad en Sierra Gaucha, ubicada en las montañas del sur de Brasil. Las pérdidas de fruta durante y después de la cosecha se redujeron en un 73 y 48%, respectivamente; obteniéndose un mejor resultado en comparación con las aplicaciones semanales de fungicida, que lograron disminuir la incidencia en un 64 y 36%, durante y después de la cosecha, respectivamente.

En ensayos de campo, *G. roseum* logró reducir la incidencia de *B. cinerea* en frutos de 76 a 48% y en estambres de 93 a 79% en 8 cultivos. En ambos casos fue tan efectivo como los tratamientos con captan (Sutton *et al.* 1997).

Un dato interesante es la utilización de abejas para dispersar el inóculo del biocontrolador, lográndose el mismo nivel de efectividad, en la protección de flores y frutos, que con aplicaciones semanales del mismo a razón de 10^7 conidios ml^{-1} . Lo anterior sin causar un efecto dañino en las abejas (Peng *et al.* 1992).

Además de flores y frutos, *G. roseum* provee un excelente combate de *B. cinerea* en el follaje, que es la principal fuente de inóculo del fruto en el cultivo. En un experimento realizado en Ontario, en la mayoría de los casos el biocontrolador (10^7 conidios ml^{-1}) redujo la esporulación de *B. cinerea* en hojas de 90 a 100% y fue tan efectivo como los tratamientos con clorotalonil (Sutton y Peng 1993).

A pesar de lo anterior, la efectividad de *G. roseum* contra *B. cinerea* puede ser afectada por el estado de desarrollo de los órganos del hospedero, las concentraciones de inóculo del antagonista y el patógeno, y las variables microclimáticas (Sutton y Yu 1997). Al respecto, Hannusch y Boland (1996) determinaron que *G. roseum* y otros biocontroladores son altamente dependientes de las condiciones ambientales para su eficacia, en especial de la temperatura y la humedad relativa.

Generalmente, una concentración de 10^6 a 10^8 conidios ml^{-1} provee un buen combate de la enfermedad en el campo y en invernaderos. Este antagonista es altamente efectivo contra el patógeno en un rango de 20 a 30°C, pero su efectividad baja progresivamente entre los 15 y 10°C (Sutton y Yu 1997).

Otro aspecto importante de mencionar es que *G. roseum* no crece a la temperatura del cuerpo humano y sus efectos toxicológicos dermales, oculares y mediante pruebas de alimentación, han sido nulos en conejos y ratas (Sutton *et al.* 1997).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del biocontrolador *Gliocladium roseum* sobre la incidencia del moho gris (*Botrytis cinerea*) en fresa sembrada en microtúneles bajo condiciones de zonas altas y húmedas; comparando su acción con el manejo comercial y evaluando a la vez la incidencia de otras enfermedades fungosas de la fresa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inóculo de *Gliocladium roseum*

El inóculo de *Gliocladium roseum* fue proporcionado por el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Costa Rica. Este consistió en granos de maíz cascado (sin tegumento) colonizados por el hongo.

Cada vez que se preparó el caldo de aplicación, los granos colonizados se pusieron en agua destilada y se agitaron por 15 min para que se suspendieran los conidios del hongo en el agua. Luego se tamizó el caldo con una gasa para eliminar los residuos sólidos.

Siempre se utilizó un caldo de aplicación con una concentración superior a 10^7 conidios ml^{-1} en concordancia con el rango de 10^6 - 10^8 recomendado y empleado por distintos investigadores en sus trabajos en fresa (Sutton y Peng 1993, Sutton 1994, Sutton *et al.* 1997, Valdebenito-Sanhueza *et al.* 1997). La concentración del inóculo fue verificada mediante el conteo de conidios con un hematocitómetro (Impruved Neubauer).

Prueba de campo

Lugar del experimento

El experimento se llevó a cabo en la finca La Aurora, ubicada en Poasito de Alajuela a 1935 msnm, con suelos de origen volcánico (andisoles), una humedad relativa promedio de 87%, precipitación anual promedio de 3543,2 mm, y una temperatura promedio de 17,2 °C, con máximas de 21,3 °C de y mínimas de 13,0 °C. Se trabajó con la variedad Oso Grande en un fresal establecido en microtúneles y en producción (de unos 6 meses de edad).

Una semana antes de la primera aplicación se realizó una purga de la fruta en madurez fisiológica antes de la primera aplicación, con el fin de asegurarse que la que se iba a cosechar y evaluar estuviera bajo la protección del biocontrolador.

Aplicaciones

Se hizo una aplicación semanal de *G. roseum* con bomba manual de jardín (DAZ Original, marca Volpi, capacidad 2 litros), tratando de cubrir el follaje y frutos de las plantas. La misma se trató de realizar siempre en horas de la tarde para favorecer el establecimiento del biocontrolador. Se realizaron un total de 15 aplicaciones durante un período aproximado de 4 meses, iniciando el 06/07/2000 y finalizando el 16/10/2000.

Cosechas

Se realizaron 2 cosechas por semana, lunes y jueves, tal y como se lleva a cabo en la finca. Las cosechas iniciaron una semana después de la primera aplicación y se realizaron durante 16 semanas, cosechando únicamente fruta madura.

Una vez cosechadas las fresas, se pusieron a incubar en cámaras plásticas (manteniendo la separación entre repeticiones) con papel toalla en el fondo sin humedecerlo. Dichas cámaras se mantuvieron a temperatura ambiente durante el período de evaluación (4 días), en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Costa Rica.

Evaluación

Se determinó el efecto de los tratamientos sobre la incidencia de *B. cinerea* y otras enfermedades fungosas de la fruta, tanto en campo como en poscosecha. Para ello, se realizó una evaluación preliminar a los 2 días de cosecha, donde se observó el desarrollo de síntomas y se descartaron invasiones secundarias. La definitiva se llevó a cabo a los 4 días posteriores a la cosecha. Se obtuvo datos de incidencia por semana por repetición. Cuando se tuvo duda sobre el agente causal de algún síntoma, se procedió a su identificación en el laboratorio mediante aislamiento en PDA.

Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar, con 3 tratamientos y 4 repeticiones. Las repeticiones de cada bloque estuvieron separadas para evitar contaminación entre tratamientos (se ubicaron en camas distintas dentro del bloque). Tres bloques se ubicaron en una misma parcela y el cuarto en otra. A los resultados se les aplicó un análisis de covarianza y de varianza para determinar las diferencias entre tratamientos.

Tratamientos

Se trabajó con los siguientes tratamientos:

1. **Comercial:** manejo que le da la finca al cultivo. La aplicación de fungicidas se realizó según las condiciones climáticas o el grado de enfermedad presente en la plantación; sin embargo, usualmente se efectuó una aplicación semanal. Por lo general, las aplicaciones se llevaron a cabo martes o sábado. Durante la realización del ensayo se utilizaron los siguientes fungicidas Daconil 50SC, Antracol 70WP, Euparen, Zetaran 76WG, Tri-Milttox Forte 65,8WP, Manzate 200 75WG, Polyram Combi 80WP, Tiovit 80WG y Azuflor 90WP. Usualmente se aplicó uno por semana y a veces varió el que aplicó en una parcela u otra.

2. **Comercial + *G. roseum***: además de los fungicidas aplicados por la finca se hizo una aplicación semanal de *G. roseum* los jueves de cada semana, excepto en las 2 últimas, para evitar que las aspersiones del antagonista coincidieran con el día de aplicación de fungicidas en la finca.
3. ***G. roseum***: una aplicación semanal en iguales condiciones que para el tratamiento 2, excepto porque no se utilizaron fungicidas.

No se incluyó un testigo absoluto, pues al estar el ensayo ubicado en una finca comercial y dentro de parcelas en producción, no se quería tener una fuente permanente de inóculo que pudiera afectar de alguna forma las frutas cosechadas para la venta.

Unidad experimental

Se contó con unidades experimentales de 10-13 plantas, con una parcela útil de 8 y el resto de borde. Sus medidas fueron aproximadamente 1,1 m de largo por el ancho de la era (70-80 cm). Las camas tenían 2 hileras de plantas sembradas en pata de gallo.

Prueba *in vitro* de fungicidas

Posterior al estudio de campo, se procedió a realizar una prueba *in vitro* para determinar el efecto de los fungicidas empleados en la finca sobre el biocontrolador. La misma se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de

Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica.

Para ello se prepararon platos de Petri agar-agua y concentraciones de 0; 0,01; 0,1; 1 y 3 mg l⁻¹ para cada uno de los fungicidas (Antracol 70WP, Zetaran 76WG, Tiovit 80WG, Euparen 50WP, Trimiltox forte 65,8WP, Dithane 80WP y Daconil 50SC). Se contó con 5 repeticiones por tratamiento.

Cuando los platos estuvieron chorreados se preparó una solución de conidios del biocontrolador (11,65x10⁶ y 5,35x10⁶ conidios ml⁻¹) y se vertió en los platos aproximadamente 50 µl (una gota), que se esparcieron luego con un asa de vidrio estéril sobre el agar. Los platos se dejaron incubando a temperatura ambiente por 24 h, al cabo de las cuales se procedió a determinar el porcentaje de germinación. Para ello se empleó un microscopio (Olympus CH-2) y se contó la cantidad total de conidios (germinados o no) encontrada en 3 puntos al azar para cada plato de Petri, empleando un lente de 20X (1-LB-542 Olympus D Plan Achromatic Obj, 20X, Cambridge Scientific Co.).

Los resultados, expresados en porcentaje, fueron transformados (arcsen \sqrt{x}) y luego se les aplicó un análisis de varianza para determinar las diferencias entre tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se observa como los tratamientos con el antagonista fueron estadísticamente superiores al combate comercial del moho gris. Esto confirma lo encontrado por otros autores en sus investigaciones, quienes determinaron

Cuadro 1. Porcentaje de frutas sanas e incidencia de enfermedades (indicadas por su agente causal) en campo durante el ensayo. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2000.

Tratamientos	Patógeno			
	Sanas	<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Phytophthora</i>
Comercial	87,89 ^a	9,38 ^b	1,04 ^a	1,69 ^a
Comercial + <i>G. roseum</i>	94,59 ^a	3,43 ^a	1,45 ^a	0,53 ^a
<i>G. roseum</i>	92,07 ^a	5,24 ^a	1,56 ^a	1,13 ^a

* Letras distintas indican diferencias significativas (dms, p=0,05).

que el combate de *B. cinerea* con *G. roseum* en fresa (tanto en hojas como en frutos) siempre fue igual o superior al logrado con fungicidas (Peng y Sutton 1991, Sutton y Peng 1993, Sutton 1994, Valdebenito-Sanhueza *et al.* 1997). Sin embargo, no se había estudiado la acción del biocontrolador en conjunto con fungicidas.

El efecto del antagonista también se puede observar a través del ensayo (Figura 1) donde casi siempre se obtuvo incidencias más bajas en los tratamientos que lo incluían. Durante las primeras semanas del ensayo, con excepción de la inicial, no se observan diferencias entre los tratamientos, talvez debido a una menor cantidad de precipitación y humedad relativa más baja (Figura 1) lo que pudo causar que la cantidad de inóculo no fuera suficiente para marcar diferencias entre ellos, como sí se observó posteriormente.

En la semana 1 de cosecha se presentó la mayor incidencia de *Botrytis* en el tratamiento 3 (sólo *Gliocladium*), mientras que en los otros 2 tratamientos no se presentó la enfermedad. Lo anterior se esperaba, pues a pesar de que se eliminó las frutas maduras de las parcelas del ensayo una semana antes de la primera aplicación del antagonista, los frutos en desarrollo restantes ya podían estar infectados. Se debe recordar que *G. roseum* sólo actúa efectivamente cuando es aplicado al mismo tiempo o antes de que ocurra la infección por parte de *B. cinerea* (Yu y Sutton 1997) o cualquier otro patógeno.

De la semana 2 a la 4 no se presentó la enfermedad en ninguno de los tratamientos. El que no se presentaran frutas enfermas en este período se pudo deber a que las condiciones de humedad ambiental (hubo una baja precipitación y una humedad relativa < 90%, Figura 1) no fueron favorables para la producción del inóculo secundario de *Botrytis* en las primeras semanas del ensayo, por lo que al bajar la cantidad de éste, la enfermedad fue combatida eficientemente por los fungicidas aplicados y por *G. roseum*.

A partir de la semana 3 de cosecha se da un incremento general de la precipitación y la humedad relativa se mantiene casi siempre por encima del 90% (Figura 1), condiciones que propician una mayor humedad y un aumento en la duración de la mojadura foliar, lo que favorece una mayor incidencia de *B. cinerea* en campo; en

concordancia con lo expresado por Agrios (1995) y APS (1998). Por tal motivo, de la semana 5 de cosecha en adelante se da un incremento en la incidencia de la enfermedad y hace que se note más el efecto del biocontrolador en el combate de la misma (Figura 1).

A partir de la semana 13 se marca menos el efecto del biocontrolador debido a una mejoría en el desempeño del tratamiento comercial (Figura 1), que pudo deberse a que, al igual que al inicio del ensayo, se presentan menores precipitaciones y humedad relativa (Figura 1) (que inducen una menor producción de inóculo secundario), y además, se intensificó el uso de fungicidas.

Dentro de las condiciones que pueden afectar el desempeño de *G. roseum* como biocontrolador están: la concentración del inóculo del antagonista y del patógeno; y las condiciones ambientales (Hannusch y Boland 1996, Sutton y Yu 1997). La concentración de inóculo del biocontrolador siempre se mantuvo en el orden recomendado (mayor a 10^6 conidios ml^{-1}), por lo que esta condición no debió afectar los resultados del ensayo. En general, durante el período experimental se presentaron condiciones climáticas que favorecieron tanto al patógeno como al biocontrolador, pues la humedad relativa siempre fue alta, hubo precipitaciones regulares y la temperatura promedio siempre estuvo por encima de los 15 °C (Figura 1). Es importante resaltar que aun cuando las condiciones dentro de los microtúneles pueden ser diferentes a las ambientales, las variaciones probablemente tienden a favorecer tanto a *B. cinerea* como a *G. roseum*, pues podría darse un efecto invernadero, con una temperatura mayor a la ambiental y una mayor condensación.

Sutton y Peng (1993) mencionan que *G. roseum* incrementa su actividad supresiva según se incrementa la temperatura de 10 a 25 °C y que a partir de los 15 °C la germinación de los conidios del biocontrolador es mayor al 80%, incrementándose también con el aumento de temperatura. Debido a ello, la temperatura promedio presente durante el ensayo tendió a favorecer tanto el desarrollo del antagonista como del patógeno, que esporula abundantemente con temperaturas entre 15 y 22 °C (Agrios 1995, APS 1998).

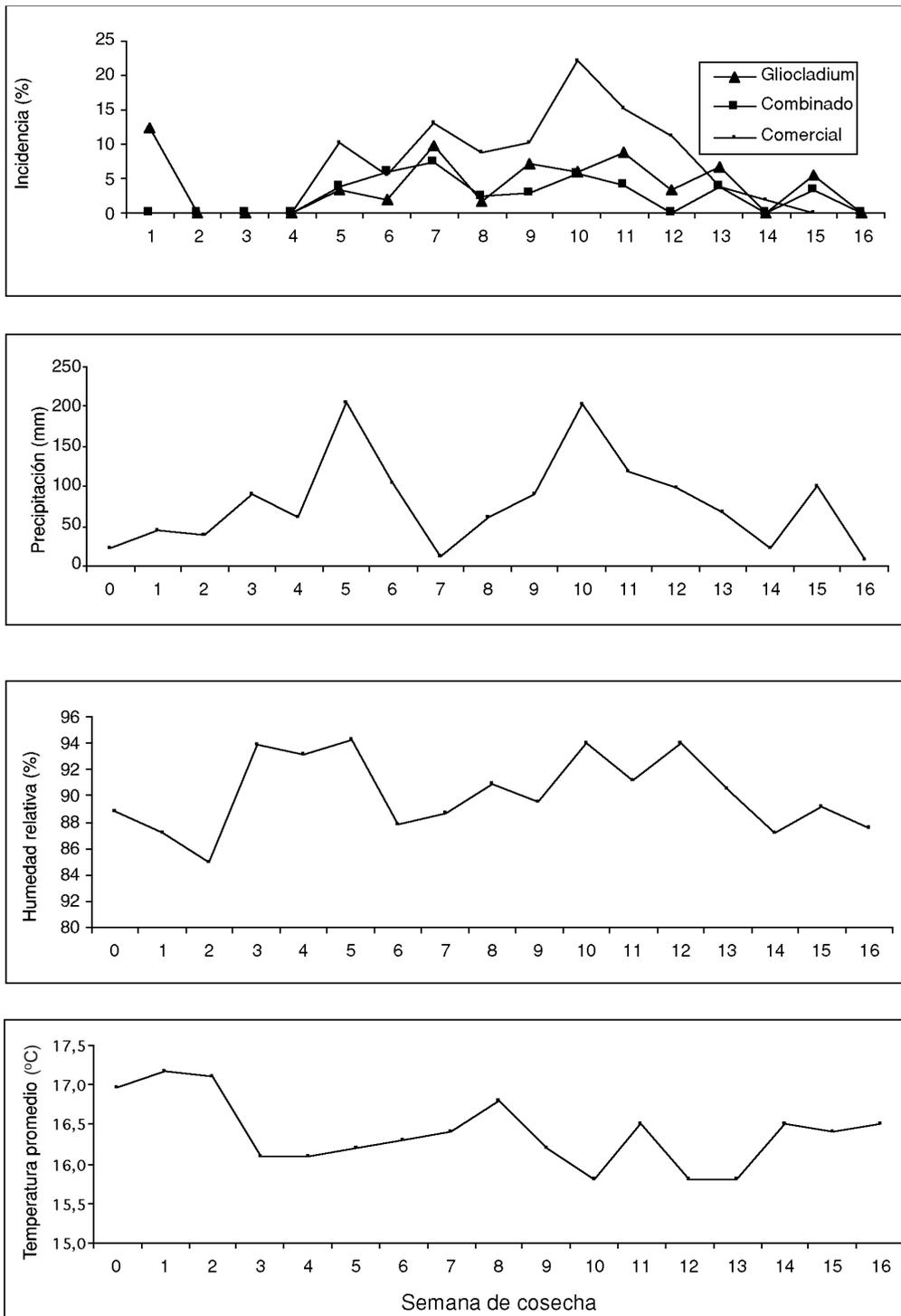


Fig. 1. Incidencia en *Botrytis cinerea* en fresa en el campo y condiciones climáticas imperantes durante la realización del ensayo. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2000.

En cuanto a la presencia de alguna deficiencia nutricional que pudiera debilitar al cultivo y favorecer la incidencia de enfermedades, cabe indicar que en general los niveles de nutrimentos, tanto en el suelo como en el tejido foliar, eran adecuados para el desarrollo del cultivo, según lo recomendado por Benton *et al.* (1991) y Bertsch (1998). Por lo anterior, se descarta que factores externos a los evaluados pudieran influir en los resultados del ensayo.

Los resultados obtenidos demuestran que al emplearse fungicidas de contacto y *G. roseum* se protege los tejidos nuevos de la infección de *B. cinerea* más eficientemente, con lo que se logra un mejor combate de la enfermedad. Esto porque, al senescer y estar colonizados por el biocontrolador, los tejidos no producirán o generarán menos inóculo secundario de *B. cinerea*, que es el que infecta las partes florales; que a su vez son la principal fuente de inóculo para la fruta (Sutton *et al.* 1997). Esta última también estará protegida por la acción del antagonista.

La ventaja de la estrategia radica en que si se aplica *G. roseum* en forma adecuada, salvaguarda la acción de los fungicidas, infectando los tejidos que escaparon de la protección química (mala dosificación o cobertura). El antagonista, al colonizar de manera sistémica los tejidos, reduce el nicho disponible para *B. cinerea*; además, luego de establecido, producirá inóculo secundario, dando una protección continua a los

tejidos de la planta. Así, con el tiempo la cantidad de inóculo secundario del patógeno debería disminuir, al haber menos nichos disponibles para su producción.

Aunque no se presentaron diferencias estadísticas también se nota cierta tendencia a obtener un mayor porcentaje de frutas completamente sanas cuando se emplea el biocontrolador sólo o en conjunto con el manejo comercial en condiciones de campo (Cuadro 1) y a través del tiempo (Figura 2). Además de *Botrytis* se presentaron en campo *Colletotrichum* y *Phytophthora*. En ambos casos no se dieron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 1), ni ocurrieron incrementos en la cantidad de frutas enfermas por estos patógenos; por lo que al usar el antagonista para combatir el moho gris no se corre el peligro de que se presenten grandes problemas con otras enfermedades.

En el combate poscosecha de *B. cinerea* no se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos que involucraron al biocontrolador con respecto al tratamiento comercial, aunque al igual que lo observado en condiciones de campo, los tratamientos con *G. roseum* muestran incidencias más bajas (Cuadro 2). Esta tendencia se observa mejor en la Figura 3, donde se muestran incidencias del patógeno menores durante la mayor parte del ensayo en los tratamientos con *Gliocladium*.

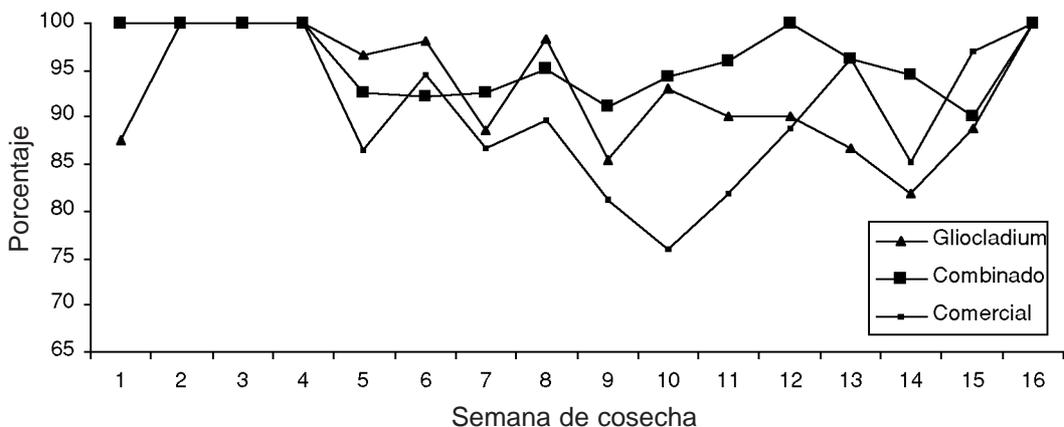


Fig. 2. Porcentaje de fresas sanas cosechadas en condiciones de campo. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2000.

Cuadro 2. Porcentaje de frutas sanas e incidencia de enfermedades (indicadas por su agente causal) en poscosecha durante el ensayo. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2000.

Tratamiento	Sanas	Enfermedad /patógeno									
		<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Verticillium</i>	<i>Penicillium</i>	
Comercial	43,11 ^a	21,19 ^a	26,52 ^a	3,56 ^a	13,63 ^b	1,19 ^a	0,15 ^a	0,15 ^a	0,00 ^a	0,15 ^a	
Comercial + <i>G. roseum</i>	56,22 ^a	13,91 ^a	17,13 ^a	3,22 ^a	12,45 ^{bb}	1,17 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,29 ^a	0,00 ^a	
<i>G. roseum</i>	41,08 ^a	17,85 ^a	27,54 ^a	6,15 ^a	9,08 ^a	0,92 ^a	0,31 ^a	0,15 ^a	0,31 ^a	0,00 ^a	

* Letras distintas indican diferencias significativas (dms, p=0,05).

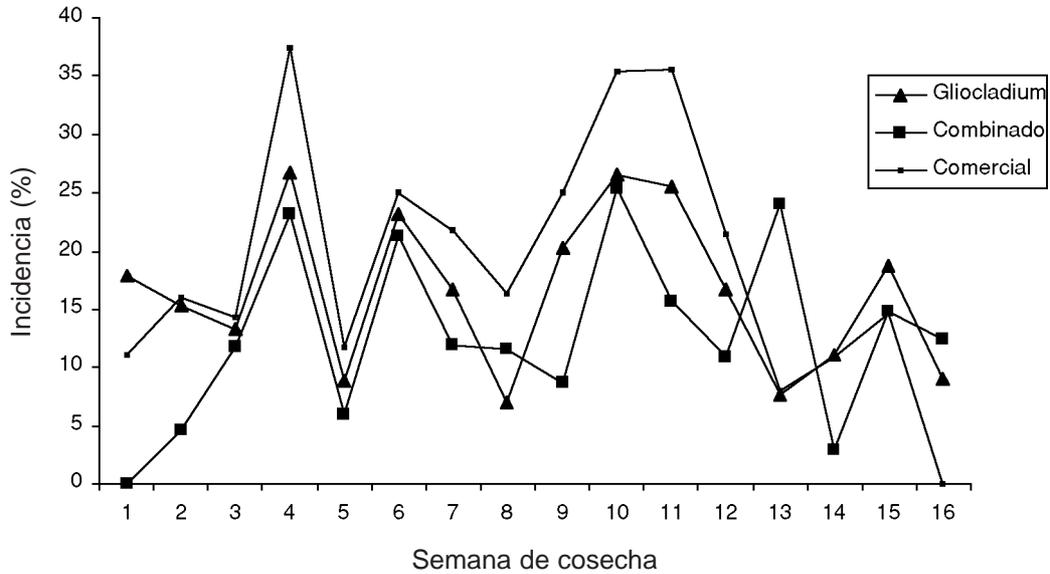


Fig. 3. Incidencia poscosecha de *Botrytis cinerea* en fresa. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2000.

Contrario a lo observado en campo, en poscosecha en las primeras semanas del ensayo si se presenta la enfermedad (Figura 3). Al no presentarse condiciones climáticas al patógeno en las primeras semanas del ensayo, es posible que la cantidad de inóculo capaz de causar infección en la fruta fuera poca. Al darse esto, es posible que la enfermedad no se expresara en condiciones de campo pero si en poscosecha, donde el ambiente que generan las cámaras propicia esta situación. En la semana 4, donde se observa un pico, el mismo se puede deber a que en esa semana en particular se cosecharon pocas frutas, lo que genera que al aparecer unas cuantas enfermas, se incrementa notablemente el porcentaje de incidencia. Para la semana 5 se da un descenso brusco de la misma, lo que se atribuye a que al haber poca cantidad de inóculo presente y darse condiciones favorables a la enfermedad (Figura 1), esta se expresó en el campo, reduciendo así la incidencia observada en poscosecha. Con el incremento de la precipitación y la humedad relativa, y la baja en la temperatura entre las semanas 3 y 5, posiblemente se incrementó la

cantidad de inóculo secundario de *B. cinerea*, lo que incrementa la incidencia de la enfermedad a partir de la semana 6, observándose en poscosecha un comportamiento similar al observado en campo; picos de incidencia en las semanas 10 y 11 (Figura 3), donde se hace más notorio el efecto del biocontrolador, y una mejoría en el desempeño del tratamiento comercial hacia el final del ensayo.

Al lograr el biocontrolador un combate poscosecha similar del patógeno al que obtuvieron los fungicidas, se comprueba el éxito de *G. roseum* como una herramienta útil en el combate de *B. cinerea*, a la vez que se corrobora lo encontrado por Valdebenito-Sanhueza *et al.* (1997), quienes obtuvieron resultados similares en las evaluaciones poscosecha de su ensayo, con este antagonista. Al igual que en este trabajo, estos investigadores tuvieron incidencias más altas de la enfermedad en condiciones poscosecha con respecto a las que se presentaron en condiciones de campo.

En el combate poscosecha de antracnosis, a pesar de que no se dan diferencias significativas entre tratamientos sí se puede observar un

marcado contraste, al aplicar conjuntamente el biocontrolador y el tratamiento comercial en el combate del patógeno en poscosecha (Cuadro 2).

En el resto de enfermedades poscosecha causadas por *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Verticillium* y *Penicillium* no se dieron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, obviando a *Rhizopus* y *Verticillium*, se nota una ligera tendencia a obtener un mejor combate al combinar el biocontrolador con la acción de los fungicidas empleados en la finca (Cuadro 2).

En general, exceptuando *Rhizoctonia*, se observa una tendencia hacia incidencias de enfermedades poscosecha más bajas al combinar el biocontrolador y los fungicidas empleados en la finca. Pero se puede concluir que se logra un combate similar de las enfermedades poscosecha tanto con los fungicidas como con el biocontrolador. Esto debido a que no hay ningún incremento sobresaliente de ninguna enfermedad poscosecha y más bien se logra un mejor combate al combinar la

acción de ambos; situación que se refleja en el porcentaje de frutas sanas obtenido para cada tratamiento (Cuadro 2 y Figura 4) y que secunda los resultados obtenidos en condiciones de campo. Con ello se comprueba la efectividad del biocontrolador y la factibilidad de emplearlo, en forma integrada en los programas comerciales de las fincas productoras de fresa. Se podría pensar primero en alternar aplicaciones de fungicidas y el antagonista, para luego reducir gradualmente el uso de los primeros según los resultados que se obtengan.

Los resultados obtenidos en la prueba *in vitro* de fungicidas corroboran lo observado en las pruebas de campo, donde se puede inferir que los productos comerciales aplicados durante el ensayo no ejercieron un efecto negativo considerable sobre el biocontrolador (Cuadro 3). Los fungicidas que parecen tener algún efecto nocivo son el Euparen 50WP, seguido por el Zetaran 76WG y el Daconil 50SC. Al respecto, no se presentan referencias de otros autores, sin embargo, se refuerza la tesis de

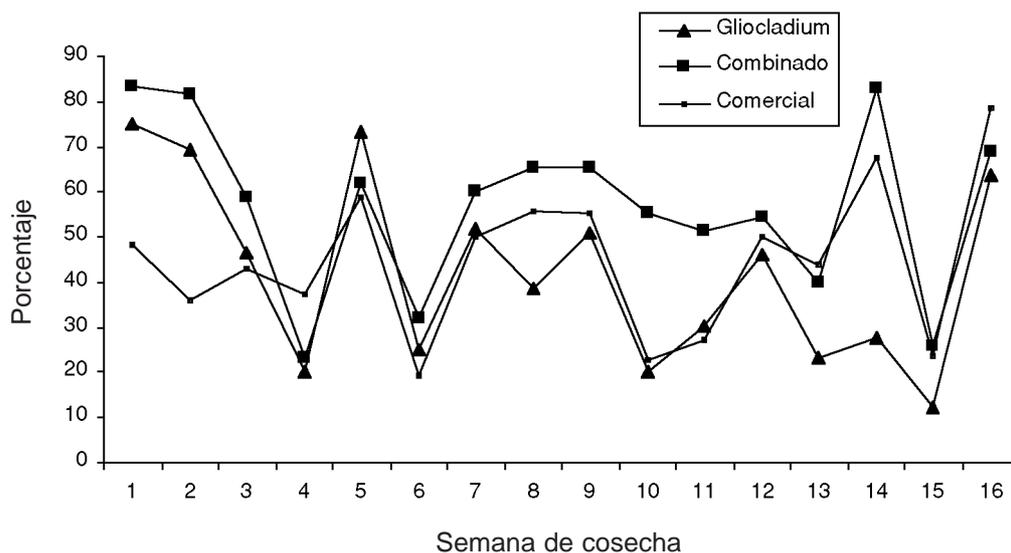


Fig. 4. Porcentaje de frutas sanas en condiciones poscosecha. Finca La Aurora, Poasito, Alajuela. 2002.

Cuadro 3. Porcentaje de germinación de los conidios de *G. roseum* obtenido en la prueba *in vitro* de fungicidas aplicados durante el ensayo. Laboratorio de Fitopatología, Universidad de Costa Rica. 2001.

Tratamiento	Concentración				
	0	0,01	0,10	1,00	3,00
Daconil 50SC	84,38 ^a	81,17 ^a	70,38 ^b	27,07 ^c	1,59 ^d
Dithane M-45 80WP	84,38 ^a	83,23 ^a	73,35 ^b	56,67 ^c	0,39 ^d
Tri-Miltox Forte 65,8WP	84,38 ^a	79,12 ^{ab}	77,81 ^{bc}	74,52 ^{bc}	6,05 ^c
Tiovit 80WP	84,38 ^{bc}	89,88 ^a	84,64 ^{bc}	73,55 ^c	23,33 ^d
Antracol 70WP	84,38 ^a	84,45 ^a	82,08 ^a	82,61 ^a	75,17 ^a
Euparen 50WP	70,00 ^a	66,54 ^a	30,53 ^b	0,61 ^c	0,00 ^c
Zetaran 76WG	70,00 ^a	63,30 ^b	44,02 ^c	32,42 ^d	0,00 ^c

* Letras distintas indican diferencias significativas (dms, p=0,05).

que es posible utilizar el biocontrolador en forma integral con el combate químico sin perder su efecto. Teniendo en cuenta la información anterior, a la hora de diseñar programas de manejo integrado de enfermedades, se debería respetar siempre un período de 2 ó 3 días entre la aplicación de los fungicidas y el antagonista.

LITERATURA CITADA

- AGRIOS G. 1995. Fitopatología. Limusa S.A. México. 838 p.
- AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY (APS). 1998. Compendium of strawberry diseases. J. Maas (ed.). The American Phytopathological Society. USA. 98 p.
- BARAONA M., SANCHO E. 1992. Fruticultura especial: manzana, melocotón fresa y mora. Fascículo 6. EUNED. San José, Costa Rica. 140 p.
- BENTON J., WOLF B., MILLS H. 1991. Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. USA. Micro Macro Publishing, Inc. 213 p.
- BERTSCH F. 1998. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo (ACCS). San José, Costa Rica. 157 p.
- ELAD Y. 1996. Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. European Journal of Plant Pathology 102:719-732.
- HANNUSCH D., BOLAND G. 1996. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). Phytopathology 86:156-162.
- KÖHL J., GERLAGH M., DE HAAS B., KRIJGER M. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. Phytopathology 88:568-575.
- MATAMOROS G. 1986. La fresa, prácticas de cultivo. Estación Experimental Fabio Baudrit, Escuela de Fitotecnia, Vicerrectoría de Acción Social, Universidad de Costa Rica – Instituto del Café de Costa Rica. San José, Costa Rica. 29 p.
- PAPAVIZAS G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology 23:23-54.
- PENG G., SUTTON J. 1991. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. Canadian Journal of Plant Pathology 13:247-257.
- PENG G., SUTTON J., KEVAN P. 1992. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Plant Pathology 14(2):117-129.
- SUTTON J. 1994. Biological control of strawberry diseases. Advances in Strawberry Research 13: 1-12.
- SUTTON J., PENG G. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. Phytopathology 83:615-621.
- SUTTON J., LI D., PENG G., YU H., ZHANG P., VAL-DEBENITO-SANHUEZA R. 1997. A versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease 81(4):316-328.
- SUTTON J., YU H. 1997. *Gliocladium roseum*: a cosmopolitan antagonist of *Botrytis cinerea* and other

- pathogens in crops. p.22-24. In Congreso Annual APS, División Caribe. Noviembre 10-12, 1997. San José, Costa Rica. 40 p.
- TATAGIBA J., MAFFIA L., BARRETO R., ALFENAS A., SUTTON J. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in residues and flowers of rose (*Rosa hybrida*). *Phytoparasitica* 26(1):319-330.
- VALDEBENITO-SANHUEZA R., SUTTON J., PERAZZO-LO I., CZERMAINSKI A. 1997. Controle biológico de *Botrytis cinerea* em morangueiros cultivados em estufa. *Fitopatología Brasileira* 22(1):69-73.
- YU H., SUTTON J. 1997. Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19(3):237-246.